

ПРОФИЛЬ МЕТИЛИРОВАНИЯ мРНК В КУЛЬТУРЕ НЕЙРОНОВ КРЫСЫ

Кислицин Валерий Юрьевич, Большаков Алексей Петрович,
Колосов Пётр Михайлович

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН
kislitsinval_bio@mail.ru

Впервые метилирование мРНК было описано ещё в 1974 году. Однако, до последнего времени функциональное значение этого явления оставалось малоизученным. Было известно, что метилирование аденозина по 6-му положению (m6A) не изменяет кодирующую способность транскриптов. Важно отметить, что определенная позиция может быть метилирована только в части транскриптов (то есть нестехиометрически) и что некоторые транскрипты, по-видимому, полностью лишены m6A, что указывает на то, что эта модификация имеет регуляторную роль. Появление технологии высокопроизводительного секвенирования даёт возможность определения позиций N6-метиладенозинов в мРНК, что очень важно для понимания функционального значения этого процесса.

У млекопитающих метилирование аденозина по 6-му положению производится комплексом метилтрансферазы, который состоит из Mettl 3, Mettl 14, Wtap, белка KIAA1429, белка RBM15 и его паралог (RBM15B). Удаление метилирования опосредовано деметилазами Fto. Показано, что уменьшение уровня метилирования мРНК снижает самообновление зародышевых эмбриональных стволовых клеток у мыши. Так исследования развития дрозофилы показали, что метилирование мРНК m6A регулирует определение пола и функции нейронов путем модуляции сплайсинга мРНК.

Мы полагаем, что метилирование аденозина в мРНК также важно для регуляции экспрессии генов в процессе нейрональной пластичности. Для исследования роли m6A при обучении мы решили провести измерение профиля метилирования мРНК в культурах нейронов из гиппокампа и коры мозга крысы после их обработки пикротоксином и без обработки. Для этого выделенную РНК мы фрагментировали инкубированием с ацетатом магния. Далее фрагменты РНК содержащие m6A выделялись с помощью m6A-специфичных антител. Из выделенных фрагментов готовились кДНК-библиотеки, которые потом секвенировались. В результате, сравнение контрольных и опытных групп должно показать изменение экспрессии, которых важно для обучения.

Работа поддержана программой Российской академии наук.